BULLETIN DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
2e Série — Tome 40 — N° 1, 1968, pp. 239-253.

MATÉRIAUX POUR L'ÉTUDE PÉDOLOGIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DES SOLS ALPINS

III. Étude d'humus bruts par inoculation de suspensions-dilutions dans les milieux de Lochhead.

Par Richard MOREAU [1]

Les méthodes d'A. G. Lochhead, bien connues en microbiologie des sols demandent un travail considérable même lorsqu'on les simplifie (R. Moreau, 1959). De plus, les Bactéries qui sont peu nombreuses dans le sol et que l'on ne trouve donc que dans les premières dilutions, échappent à l'isolement : en effet, dans des sols naturels, comme les sols forestiers par exemple, on isole généralement les germes à la dilution 10^{-5} ; pour les terres de culture ou les rhizosphères, on doit choisir souvent une dilution encore plus basse.

Pour tenter de remédier à ces inconvénients, nous avons mis au point une méthode originale, que nous avons appliquée d'abord, avec C. Tysset et J. Brisou (1962) à l'étude des boues marines. Le principe en est simple : on ensemence les principaux milieux de Lochhead avec des suspensions-dilutions de terre et l'on suit l'évolution des cultures au photomètre. De cette manière, on peut examiner assez rapidement un plus grand nombre d'échantillons qu'avec la méthode d'isolement.

Par ce moyen, nous avons étudié des humus bruts alpins prélevés sous trois formations végétales distinctes et nous les avons comparés avec un sol de jardin et un sol forestier de basse altitude :

— un humus brut prélevé sous *Rhododendron ferrugineum*, vers le Glacier du Tour, Haute-Savoie (cf. W. Gams et R. Moreau, 1961) ;

— un humus brut de combe à neige à *Soldanella alpina* : Belalp/Blatten ob Naters-Brig, Valais (Suisse) ;

— Un humus brut sous *Loiseleuria procumbens* et *Empetrum nigrum* : Plattje / Saas-Fee, Valais (Suisse) ; [2]

— notre terre de jardin (Besançon, Doubs) et notre terre forestière (rendzine, La Verrière du Gros-Bois, Doubs) habituelles (cf. par exemple *in* J. Augier et R. Moreau, 1960).

Méthodes utilisées.

A. *Milieux de culture :* nous avons repris les cinq formules principales publiées par A. G. Lochhead et F. E. Chase (1943) et nous en avons tiré deux séries de milieux :

1. Pharmacien-Chef des Hôpitaux, Centre Hospitalier de Saint-Étienne, Loire.
2. Pour les humus bruts alpins, cf. les travaux de Neuwiger et Czell (1959).

1° *milieux originaux de Lochhead :*

a) *Milieu I (milieu de base) :* glucose : 1 g, phosphate monoacide de potassium : 1 g, nitrate de potassium : 0,5 g, sulfate de magnésium : 0,2 g, chlorure de calcium : 0,1 g, chlorure de sodium : 0,1 g, chlorure ferrique : 0,01 g, eau distillée : q. s. p. 1 l. Chauffer à 100° C, filtrer et ajuster à pH 6,8.

b) *Milieu II (ou A) :* Vitamin-free casamino acids Difco (J. W. Rouatt et A. G. Lochhead, 1955) : 4 g, milieu de base (I) : q. s. p. 1 l.

c) *Milieu III (ou G) :* Cystéine : 0,05 g, inositol : 0,05 g, Pyridoxine et riboflavine : aa 200 mg, thiamine, acide pantothénique et acide nicotinique : aa 100 mg, biotine : 0,1 mg, milieu de base (I) : q. s. p. 1 l.

d) *Milieu IV (ou Y) :* Extrait de levure Difco : 1 g, milieu de base (I) : q.s.p. 1 l.

e) *Milieu V (ou YS) :* Extrait de levure Difco : 1 g, extrait de terre standard : 250 ml, milieu de base : q. s. p. 1 l.

Ces 4 derniers milieux sont ajustés à pH 6,8 et divisés à raison de 5 ml par tube de 18. On stérilise.

2° *Milieux modifiés :* les milieux précédents contiennent des quantités assez variables d'aliments. Nous avons cherché à les « équilibrer » de ce point de vue, en augmentant ou en diminuant les doses de certains :

a) *Milieu de base modifié :* glucose : 1,5 g par litre ;

b) *Milieu II modifié :* casamino-acids : 1 g, glucose 1,5 g par litre.

c) *Milieu III modifié :* milieu précédent + vitamines ;

d) *milieu IV modifié :* mileu II modifié + extrait de levure ;

e) *milieu V modifié :* milieu V normal, mais on complète avec le milieu de base modifié ;

f) *milieu VI (nouveau) :* extrait de terre : 100 ml, extrait de levure Difco : 1 g, milieu de base modifié : q. s. p. 1 l.

Les milieux sont également ajustés à pH 6, 8, divisés et stérilisés.

B. *Ensemencement :* au moins 3 tubes par dilution à raison de 1 ml de suspension-dilution par tube. Notons à ce sujet qu'il est indispensable d'inoculer *toute la terre* (ou l'humus) et non un surnageant. Ce dernier, en effet, ne contient pas les Bactéries *adsorbées* sur les colloïdes du sol et qui, mises en contact avec un milieu de culture, peuvent néanmoins se développer normalement.

C. *Mode de lecture :* on lit chaque jour (ou éventuellement plusieurs fois par jour) la densité optique ou le pourcentage de transmission des tubes de cultures Pour cela, les tubes sont sortis de l'étuve et agités légèrement de façon à remettre la culture en suspension. Il est nécessaire, pour les premières dilutions, de prendre garde à ne pas mettre en suspension la petite quantité de terre apportée par la dilution. La lecture, dans ce cas, est évidemment un peu plus délicate mais le tour de main s'acquiert facilement. De même, il est important de prendre garde aux fragments de mycélium qui peuvent fausser légèrement la lecture. Ces fragments sédimentent assez vite, sans que la culture proprement microbienne puisse en faire autant de façon sensible, dans le même temps. On lit alors la densité optique au photomètre, dans le rouge (vers 650mμ).

D. *Etude des groupes physiologiques en milieux liquides :* nous ajouterons quelques courbes concernant les groupes physiologiques des humus, dans la mesure où ces résultats complètent ceux que nous avons obtenu avec la technique précédente. Nous avons employé ici nos techniques habituelles (cf. pour l'amylolyse : J. Augier et R. Moreau, 1960 ; pour les phénols : R. Moreau, M. Jacob et J. Augier, 1960 et R. Moreau et J. Augier, 1962 ; pour l'ammonification : R. Moreau, 1961).

Résultats.

Nous les avons groupés dans des séries de courbes dont nous ne pouvons publier ici que deux exemples caractéristiques. Par contre, nous faisons figurer intégralement les planches qui concernent les taux de croissance des espèces bactériennes dominantes : elles résument toutes les autres.

Enfin, quelques schémas supplémentaires se rapportent aux groupes physiologiques.

Interprétation des résultats.

A. *Courbes obtenues avec les milieux de Lochhead.*

I. *Introduction :*

Le principe est le suivant : l'inoculation de suspensions-dilutions aux milieux apporte un mélange de germes. En accord avec les travaux de J. Monod (1942), nous considérons que l'espèce dont le taux de croissance est le plus élevé pour une dilution et un milieu donnés, domine. On peut donc supposer qu'il en sera ainsi pendant les premières heures ou les premiers jours de culture au moins, c'est-à-dire tant que la culture primitive est en phase exponentielle. Il n'est pas impossible cependant que deux espèces qui présentent le même taux de croissance (ou un taux très voisin) coexistent et croissent ensemble : le résultat est néanmoins le même.

En pratique, les courbes obtenues en début de culture sont toujours des droites. Pour les dessiner, on reporte simplement les points obtenus en faisant la moyenne des densités optiques (ou des pourcentages de transmission) de tous les tubes d'une même dilution en coordonnées semi-logarithmiques ou simples, en fonction du temps. La première partie de chaque courbe correspond à la phase exponentielle de croissance des germes dominants de la dilution considérée, sur un milieu donné, neuf. Ensuite la culture décroît, puis on observe souvent de nouvelles pointes dues, par exemple, à une utilisation de déchets ou de corps microbiens morts. Enfin, les cultures décroissent définitivement.

Pour la première partie de la courbe, il nous a paru admissible de calculer le taux de croissance moyen des microorganismes dominants, en appliquant la formule de J. Monod (1942) :

$$\mu = \frac{\log x_2 - \log x_1}{(T_2 - T_1) \log 2}$$

dans laquelle x_2 et x_1 sont les densités optiques des cultures aux temps T_2 et T_1.

Les points obtenus sont également reportés sur des graphiques.

Ce mode d'interprétation vaut uniquement pour la première partie de chaque courbe. Quelques commentaires sont nécessaires à ce propos.

Tout d'abord, en raison du fait que les dilutions ne permettent d'inoculer qu'un petit nombre de germes dans chaque tube,

— le temps de latence est relativement élevé ;

— les résultats ne sont obtenus qu'au bout de 12 heures dans les meilleurs cas et le plus souvent après 24 heures.

D'autre part, l'impossibilité matérielle (vu le grand nombre de tubes manipulés) de suivre l'évolution de chaque tube à des intervalles de temps suffisamment courts, a fait que, dans le cas des premières dilutions surtout, les courbes obtenues sont plus rudimentaires que dans le cas de cultures pures ; en particulier, la fin du temps de latence échappe généralement à l'observation [1]. Néanmoins, la précision obtenue est au moins égale à celle que donne la méthode en différentielle ou encore celle qui consiste simplement à suivre la disparition d'un substrat : en effet, les lectures ont été faites de façon strictement comparable et à des intervalles de temps connus ; les erreurs se compensent donc. De plus, la mesure de la densité optique des cultures permet de connaître la quantité de matière vivante formée, ce que ne donnent pas les autres méthodes.

Enfin, pour éliminer l'erreur due à l'inclusion du temps de latence dans le temps total mis par les cultures pour atteindre leurs points maximums, dans la grande majorité des cas, nous avons calculé les valeurs de μ entre deux points certains des courbes, ces points délimitants toujours des portions de droites.

II. *Etude des courbes :*

a. Humus de *Rhododendron ferrugineum* (fig. 1) : Les six dilutions ensemencées se partagent en trois groupes de deux ; ce phénomène apparaît plus ou moins nettement sur les cinq milieux. On peut donc estimer que trois populations microbiennes distinctes coexistent dans cet humus.

La première (dilution 10^{-1} et 10^{-2}) possède le taux de croissance le plus élevé (et plus particulièrement encore, la partie de cette population qui domine dans la première dilution). Les microbes sont stimulés par des acides aminés et, dans le cas de la première dilution, par les vitamines. L'extrait de terre, à lui seul, possède une action aussi favorable que celle des acides aminés.

La seconde population (dilution 10^{-3} et 10^{-4}) réagit de la même façon, mais les courbes sont plus groupées, il s'agit probablement d'une flore homogène, dont le taux de croissance est légèrement inférieur à celui de la précédente. L'extrait de terre est nettement favorisant, tout comme pour les germes qui sont représentés par le troisième groupe de courbes.

Dans ce dernier cas, les microbes semblent appartenir à la population autochtone, au sens de WINOGRADSKY : l'apport de nourriture ne provoque l'apparition d'aucun pic net : par contre, le taux de croissance maximum est obtenu sur l'extrait de terre, en absence d'apport d'acides aminés, de vitamines ou d'extrait de levure. En définitive, dans cet humus, trois populations coexistent : les deux premières, plus nettement zymogènes, ont besoin surtout d'acides aminés et

1. L'emploi d'un biophotomètre enregistreur, comme l'a fait J. AUGIER (1959) aurait permis l'obtention de courbes plus précises. Malheureusement, nous ne disposions pas de cet appareil pour nos expériences. Il n'en sera plus de même prochainement : certains points de ce travail seront donc précisés ultérieurement.

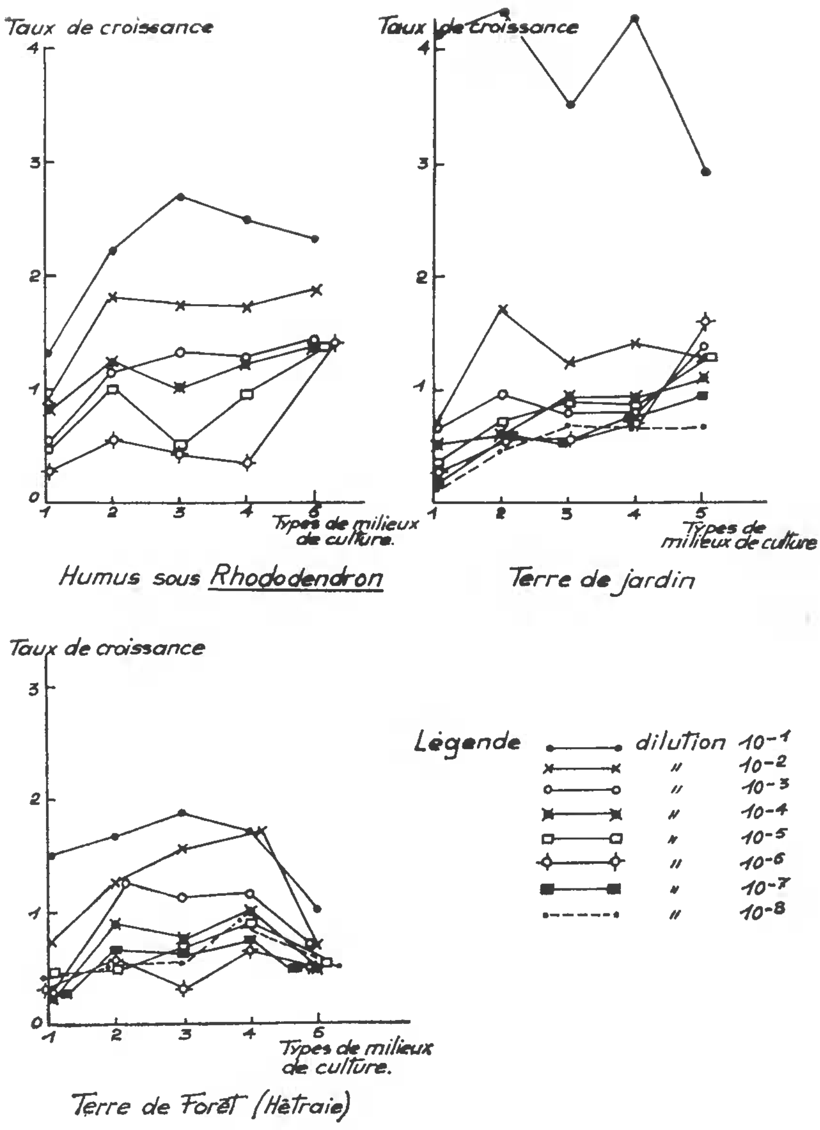


Fig. 1. — Taux de croissance pour chaque dilution en fonctions des types de milieux de culture. Les conventions graphiques définies ici sont valables pour les figures 2, 3 a et 3 b.

d'extrait de terre pour atteindre un développement maximum ; la troisième, autochtone, uniquement d'extrait.

La nécessité d'un apport d'extrait de terre est le caractère commun à ces trois groupes de microorganismes.

b. Humus à *Soldanella alpina* (fig. 2 et 3) : Toutes les courbes sont sensiblement groupées : les germes dominants possèdent donc tous le même taux de

croissance ; ils constituent probablement une population homogène. Comme dans le cas précédent (et ceux qui vont suivre), les courbes obtenues sur le milieu 1, le plus pauvre, sont peu groupées et les taux de croissance bas : il y a peu de germes autotrophes ou frugaux dans ces humus. Par contre, les autres se superposent presque exactement, à l'exception toutefois du n° 5 (extrait de terre). La croissance maximum est atteinte, ici, sur le milieu n° 2, composé d'acides aminés ; les faibles différences enregistrées entre ce milieu et ceux à base de vitamines ou d'extrait de levure, laissent à penser que ces facteurs de croissance n'ont qu'une action limitée sur les microorganismes de l'humus de *Soldanella*. Par contre, l'extrait de terre pourrait avoir une action tonique.

La comparaison avec les résultats obtenus en modifiant les milieux permet d'utiles constatations :

milieu I : l'augmentation de la dose de glucose fait apparaître un effet légèrement zymogène dans les quatre premières dilutions ;

milieu II : l'effet des acides aminés subsiste, bien que légèrement amoindri du fait de l'abaissement de leur concentration ;

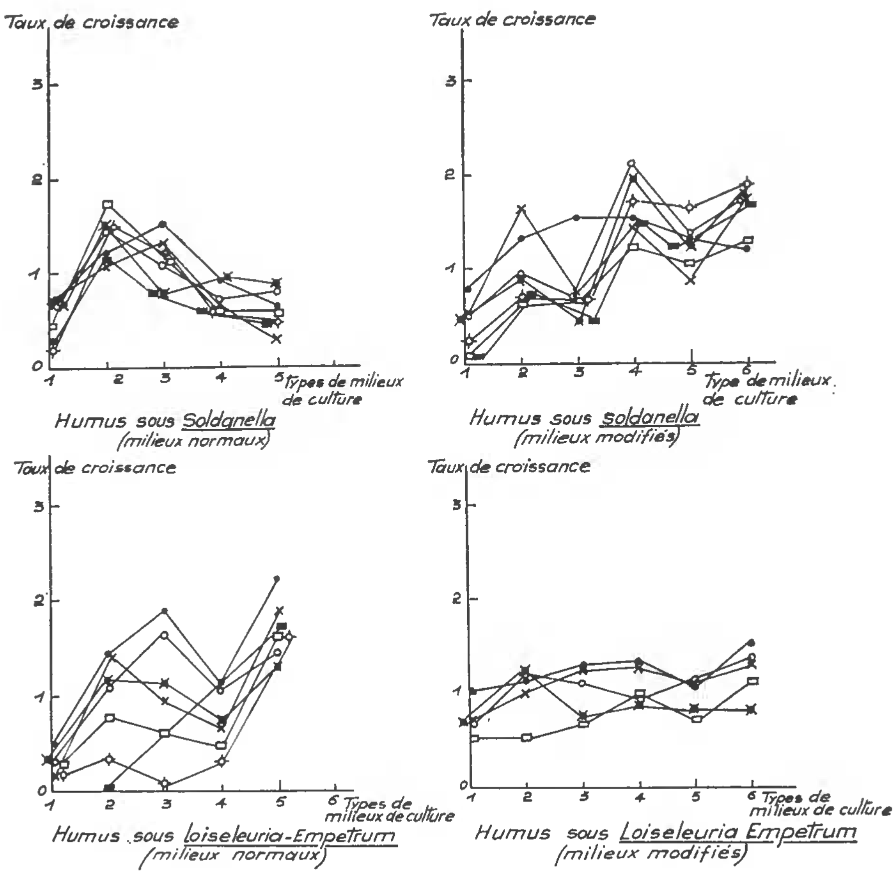


Fig. 2. — Cultures sur milieux de Lochhead.
Taux de croissance pour chaque dilution en fonction du milieu de culture.

milieu III : sur le milieu modifié, le taux de croissance, pour chaque dilution, accuse une diminution qui ne peut être liée qu'à celle de la dose d'acides aminés. Les vitamines n'ont donc pas une action essentielle ;

milieu IV : cette observation est confirmée ici : l'augmentation de la concentration en amino-acides provoque une poussée microbienne, ce qui souligne le rôle favorable de ces substances pour les microorganismes de cet humus. Mais comme le taux de croissance est plus élevé que dans le milieu II normal, il y a certainement une potentialisation avec l'extrait de levure.

milieu V : il a été enrichi en substances énergétiques. Le taux de croissance est plus élevé que dans le milieu normal : les microbes réagissent donc d'abord à l'apport alimentaire et secondairement à celui de l'extrait de terre ;

milieu VI : dans celui-ci, la dose d'extrait de terre a été abaissée : or, on constate que le taux de croissance est encore augmenté et que toutes les courbes se superposent. L'extrait de terre possède donc une action favorisante pour les microbes de cet humus, *mais à faible dose.* Au delà, son action peut devenir dépressive.

En conclusion, pour cet humus, la population est homogène et réagit à tout apport alimentaire. En ce sens, elle est de type zymogène. Elle est stimulée plus spécialement par l'apport d'acides aminés et, secondairement, d'extrait de levure.

c. Humus à *Loiseleuria-Empetrum* (fig. 2) : Cet humus contient très peu de microorganismes capables de pousser sur milieu pauvre : ceux de la dernière dilution ensemencés, 10^{-7}, ne s'y développent même pas. Par contre, ils réagissent très fortement à l'adjonction d'extrait de terre. D'une manière générale, ce sont les acides aminés et surtout les vitamines et l'extrait de terre qui ont l'action la plus forte sur la micropopulation de cet humus.

Sur les milieux modifiés, les taux de croissance sont nivelés, ce qui laisse tout de même penser qu'il s'agit d'une population homogène, mais non zymogène. On remarque ici encore que la diminution de la dose d'extrait de terre permet une meilleure croissance des germes.

En conclusion, c'est le besoin en vitamines et en extrait de terre, employé à petite dose, qui paraît caractériser cet humus.

d. A titre de comparaison, nous citons les courbes obtenues avec nos *terre de jardin et terre forestière* habituelles. Dans la terre de jardin (fig. 1) le taux de croissance d'une dilution, la première, dépasse toutes les autres. Comme on pouvait s'y attendre dans cette terre régulièrement fumée, ce phénomène signe la présence d'une population zymogène extrêmement active. La seconde dilution est certainement zymogène elle aussi, mais elle se sépare moins nettement des suivantes. Celles-ci, enfin, donnent des courbes très proches les unes des autres, donc de taux de croissance très voisin. Sauf dans le cas des deux premières dilutions, ce sont les extraits de levure et de terre qui stimulent le mieux la microflore.

La terre forestière, elle (fig. 1), manifeste deux réactions nettes : dans les deux premières dilutions, on voit dominer des germes à tendance probablement zymogène, surtout favorisés par les acides aminés et en second lieu par les vitamines. Toutes les autres courbes montrent une population relativement homogène, qui réagit surtout à l'apport d'acides aminés et d'extrait de levure. L'extrait de terre, dans tous les cas, aurait plutôt un effet dépresseur.

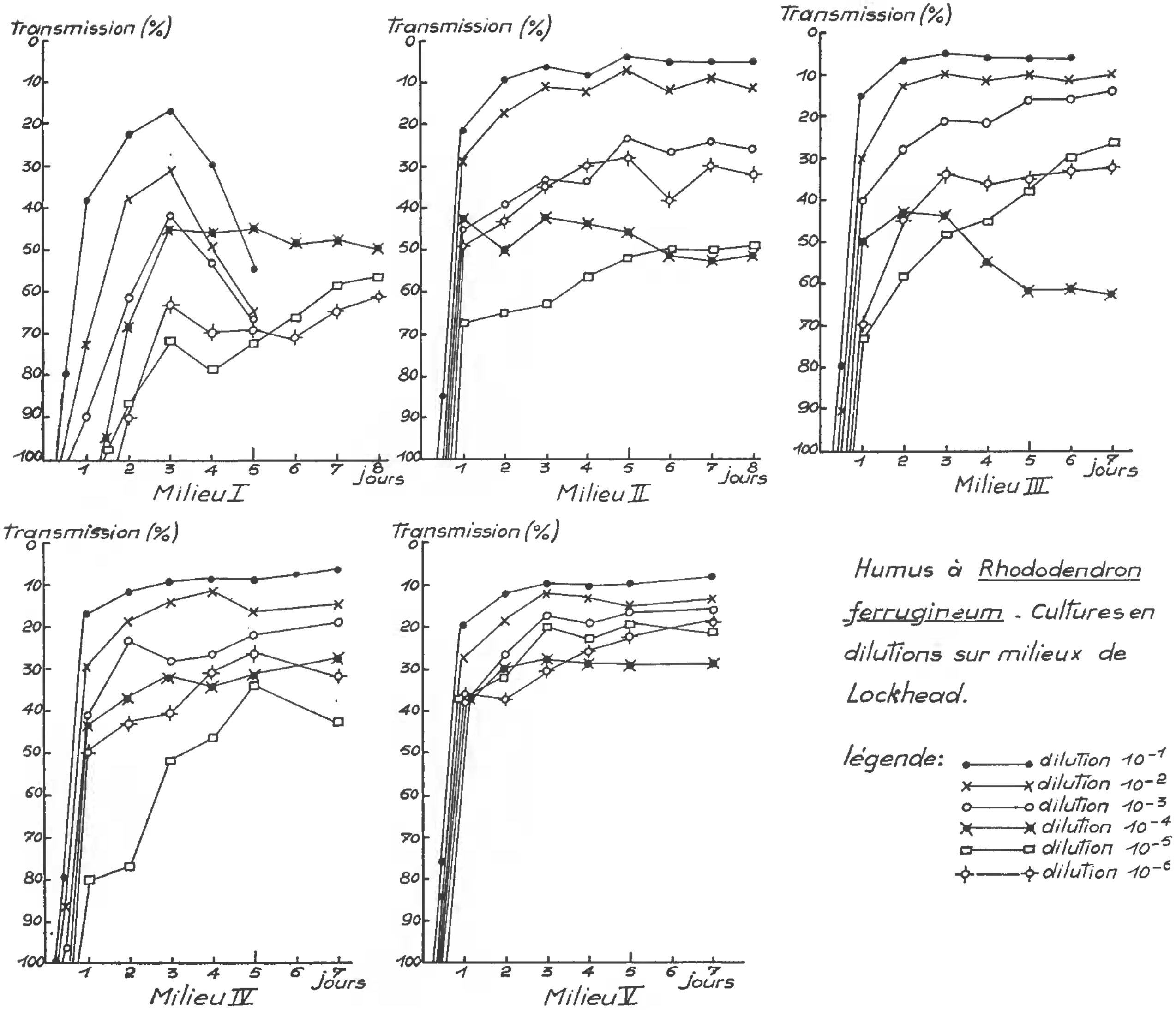


FIG. 3. — Humus à *Rhododendron ferrugineum*. Cultures en dilutions sur milieu de LOCHHEAD.

e. Conclusion : il semble donc que l'on peut obtenir par cette méthode des ensembles de courbes caractéristiques pour chaque humus examiné. Les taux de croissance calculés, reportés sur un schéma en fonction des milieux et des dilutions, résument assez bien les résultats.

Une objection possible nous a été faite par A. G. Lochhead lui-même [1] : comme on ensemence la microflore totale du sol, on peut craindre que les germes à fort pouvoir de synthèse et qui, de ce fait, libèrent des acides aminés et surtout des vitamines dans le milieu, faussent les résultats en apportant aux microbes peu autotrophes les substances de croissance dont ils ont besoin. Dans ce cas, tout les résultats seront semblables et la méthode n'a pas d'intérêt.

Il est certain que ce risque existe. Mais on sait (J. Augier, 1959) que les germes à fort pouvoir de synthèse (zymogènes) sont moins nombreux dans le sol que les autres : ils n'interviendront donc que dans les premières dilutions : c'est ce que montre l'expérience. Ils seront ensuite éliminés au fil des dilutions. Par ailleurs, nous nous intéressons presque uniquement à la première partie des courbes, celle qui correspond à la phase exponentielle de croissance ; au cours de celle-ci, qu'ils aient ou non un fort pouvoir de synthèse, ce sont les germes dont le taux de croissance est le plus fort pour une dilution ou un milieu déterminé, qui démarrent les premiers et dominent. Le reste des courbes montre ensuite qu'il se passe effectivement beaucoup de choses : certaines courbes ont une allure diauxique, par exemple ; il est probable qu'elles correspondent à l'épuisement du milieu en certaines substances, et la culture reprend ensuite soit par l'adaptation des germes dominants à un aliment présent dans le milieu et non utilisé jusque là, soit par la consommation de corps microbiens morts, soit enfin parce que les germes restés masqués prennent alors leur départ.

Quoi qu'il en soit, cette méthode nous a permis de constater que :

— l'humus du *Rhododendron* renferme trois populations bien distinctes, alors que celui de *Soldanella* n'en contient apparemment qu'une. L'humus de *Loiseleuria-Empetrum* est différent des deux autres : il paraît posséder une flore relativement homogène sauf en ce qui concerne la 7e et dernière dilution ensemencée, et qui de ce fait contient les germes les plus nombreux. Le taux de croissance en est faible sur tous les milieux sauf sur extrait de terre ;

— ces populations ont des besoins nutritionnels différents :

Rhododendron : besoin principal : l'extrait de terre ;
Soldanella : besoin principal : acides aminés ;
Empetrum-Loiseleuria : besoin principal : vitamines.

Chaque humus paraît donc caractérisé par une population microbienne relarivement spécifique (il est cependant probable qu'un fond commun existe) ;

— l'action favorisante de l'extrait de terre n'est pas une constante ; à tout le moins, il peut ne pas avoir d'action du tout sur les microbes, du moins en ce qui concerne l'extrait standard que nous employons.

B. *Courbes obtenues par la méthode en différentielle.*

I. *Amylolyse* (fig. 4) *:*

Elle est moyennement active sous *Soldanella*, comme sous *Loiseleuria-Empetrum.* Dans ce dernier cas, la différentielle fait un angle trés accusé

1. Lettre personnelle, 1961.

entre les 4e et 5e dilutions et, en conséquence, laisse supposer l'existence au-delà d'une population très peu active qui correspondrait probablement à celle remarquée sur milieux de LOCHHEAD (encore que celle-ci se soit manifestée plus loin dans les dilutions).

Sous *Soldanella*, la différentielle fait un angle très obtus, qui ne permet pas de conclure à la présence de deux flores.

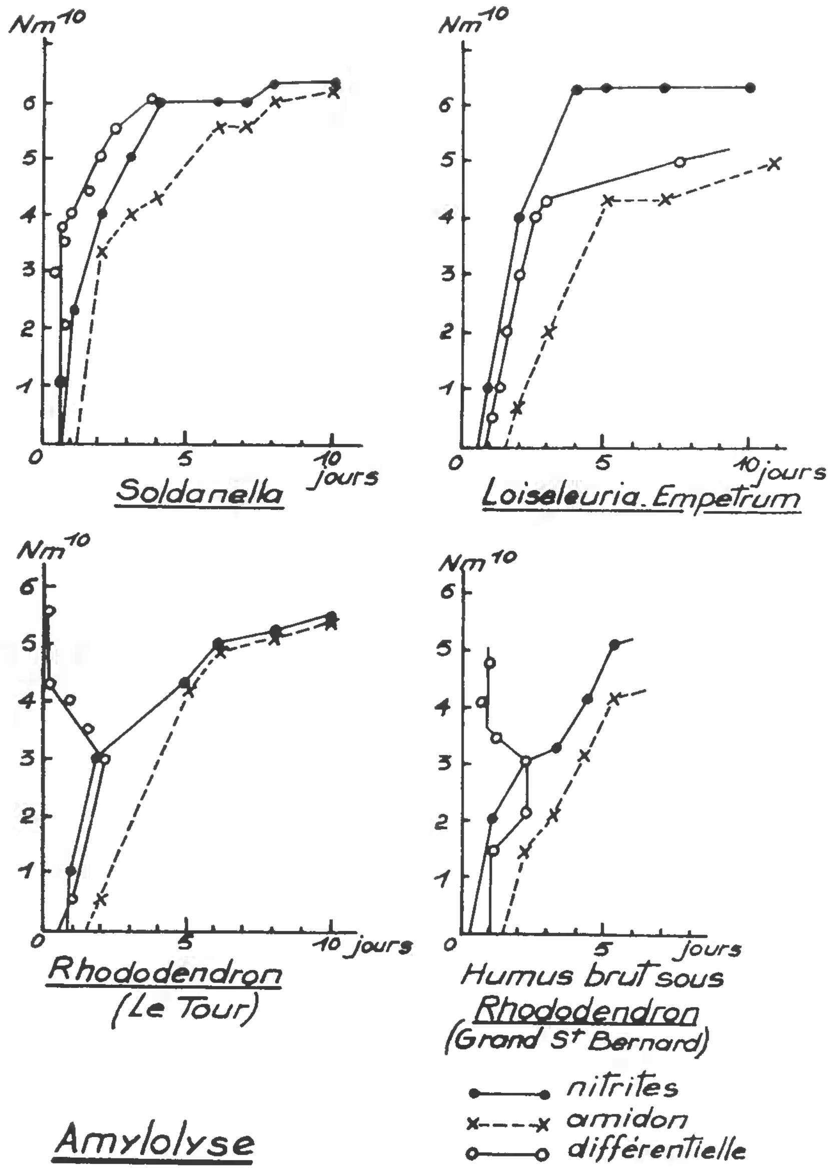


FIG. 4. — Amylolyse.

Le cas des humus de *Rhododendron* est plus intéressant :

— d'une part trois populations sont nettement mises en évidence, à des dilutions proches de celles où nous les avons remarquées sur les milieux de Lochhead ;

— d'autre part, ces populations soulèvent un problème que nous n'avons pas résolu (cf. J. Augier et R. Moreau, 1960) : une première population moyennement active domine jusque vers le niveau 2 ; une seconde, moins active, jusqu'à un niveau intermédiaire entre 3 et 4 pour l'humus du Grand Saint-Bernard, au delà de 4, pour celui du Glacier du Tour : puis paradoxalement, une troisième, plus active, dans les dernières dilutions.

L'interprétation est évidemment très délicate. On pourrait suggérer que jusqu'au niveau moyen 3 (ou 4) existe une flore antibiotique à l'encontre des germes amylolytiques qui s'étendent jusqu'aux dernières dilutions, mais pas à l'égard de ceux qui dominent dans les deux premières dilutions. Il n'est pas interdit de penser non plus que la flore qui s'étend à partir des Nm 3 et 4 jusqu'à la fin, est elle-même fortement antibiotique pour celle qui va de 0 à 2, mais que cette antibiose ne se manifeste qu'à partir du niveau moyen 2. Auparavant, la compétition nutritive des premiers l'emporte probablement. La zone entre

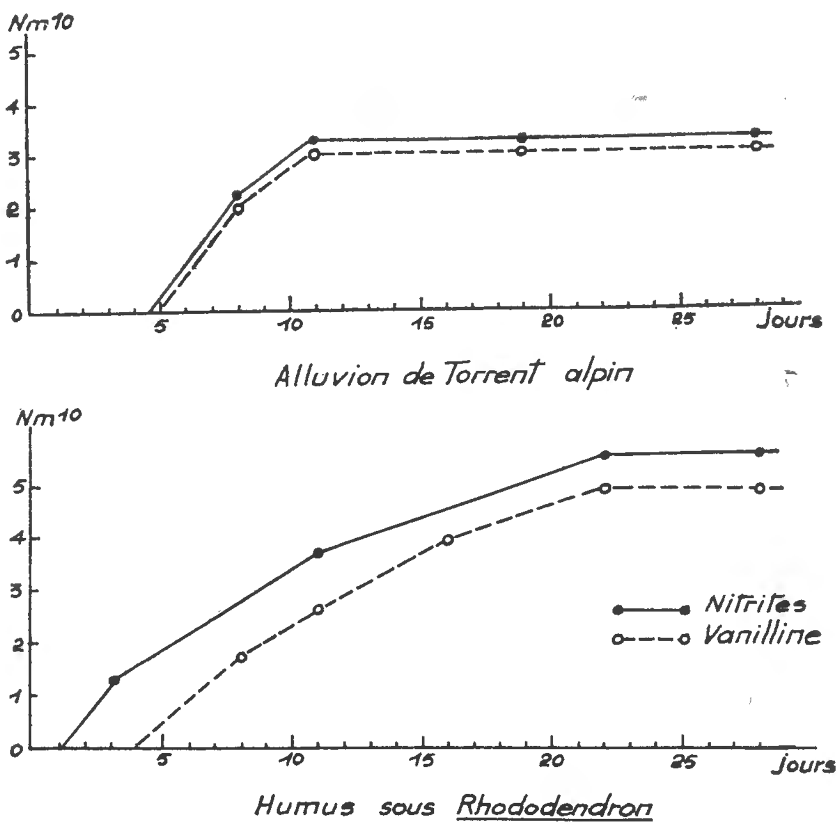


Fig. 5. — Courbes de disparition de la vaniline.

les niveaux 2 et 3 pourrait être alors une zone contestée où les germes de la deuxième flore empêcheraient ceux de la première de continuer à se développer mais ne seraient pas encore en mesure d'attaquer suffisamment le substrat.

De plus, notre première interprétation soulève un problème difficile : pourquoi la flore antibiotique est-elle moins nombreuse que la flore apparemment sensible (celle qui va de 10^{-2} ou 10^{-4} au delà). Nous n'avons pour le moment aucune explication satisfaisante à donner. Tout au plus peut-on suggérer que, dans le sol, les germes à activité probablement antibiotique, correspondant au niveau 3, n'ont plus cette action sur ceux de la flore qui s'étend au delà de 4, en raison d'un facteur qui l'entrave et que l'expérience présente ne permet pas de déceler.

II. *Utilisation des phénols* (fig. 5 et 6) *:*

Dans le cas des humus à *Soldanella* et à *Empetrum-Loiseleuria*, les phénols sont utilisés généralement assez vite, et tout spécialement l'acide p-hydroxybenzoïque peu épais et dans lesquels l'humus ne s'accumule pas. On peut estimer que des microorganismes adaptés à ces sources de carbone y vivent normalement.

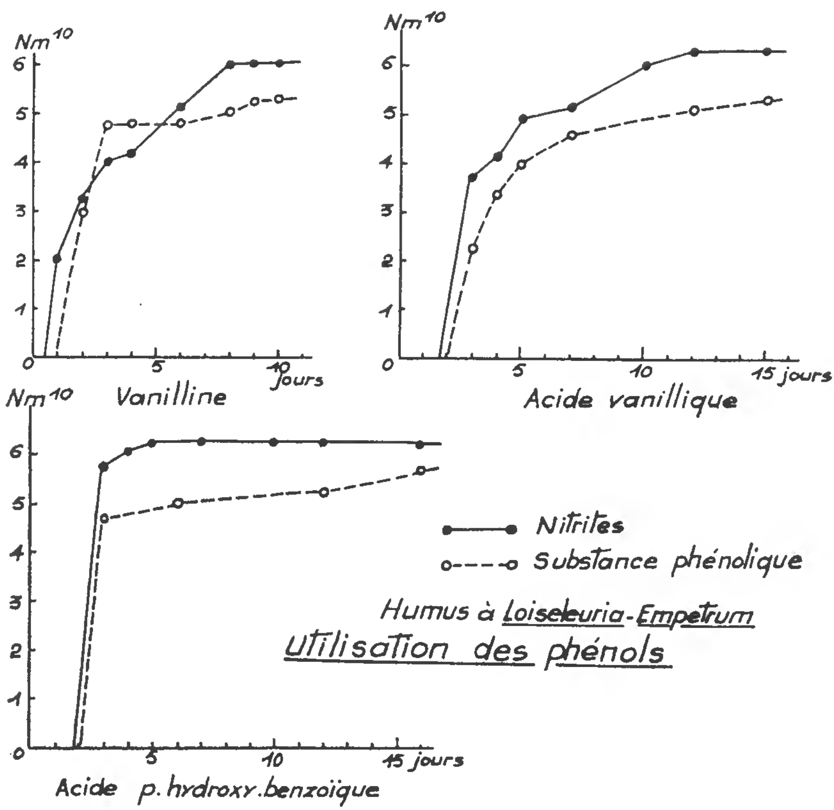


FIG. 6. — Humus à *Loiseleuria-Empetrum*.
Utilisation des phénols : nitrites ●———● ; substance phénolique O- - - - - - -O.

Il n'en est pas de même pour l'humus de *Rhododendron* comme pour une des alluvions étudiées précédemment : Gi 3 (R. MOREAU, 1961) et citée ici à titre comparatif. Dans un milieu de la vanilline, la culture démarre très lentement et atteint son maximum après plus de 20 jours, pour un Nm de 5 environ.

Ces deux sols ne contiennent pas de microbes adaptés à la source de carbone proposée ; les microorganismes, mis en évidence cependant, sont plus nombreux et agissent probablement par l'intermédiaire d'enzymes adaptatives.

L'alluvion est un sol sans réserve ; la flore de surface est surtout composée de plantes herbacées. Ce sol squelettique ne reçoit donc que peut de lignine, car des débris de bois ne peuvent y être apportés qu'accidentellement et sont le plus souvent entraînés rapidement par les eaux. L'humus brut, est constitué d'une épaisse couche de matière organique noirâtre, qui s'entasse sans se détruire. Dans les deux cas, il paraît normal qu'il n'y préexiste aucune flore adaptée à la destruction des substances phénoliques en général, et en particulier de la vanilline, dont on sait qu'elle est un constituant essentiel de la lignine.

III. *Ammonification :*

Il n'y a pas de différence bien nette entre les sols, sinon dans les Nm maximum atteints. Nous avons vu à plusieurs occasions, que les humus à *Loiseleuria* en particulier, contiennent plus de germes que ceux sous *Rhododendron.*

En définitive, les quelques résultats signalés ci-dessus confirment et complètent ceux obtenus à l'aide des milieux de LOCHHEAD. Ils montrent en particulier que les humus bruts très épais ne contiennent pratiquement pas de germes susceptibles d'attaquer la lignine ou ses dérivés.

CONCLUSION.

Les landes à *Rhododendron ferrugineum* et à *Loiseleuria procumbens-Empetrum nigrum* se distinguent déjà très nettement les unes des autres, par la composition de la microflore fongique de leur humus, comme nous avons eu l'occasion de la montrer précédemment (W. GAMS et R. MOREAU, 1961). Des différences tout aussi nettes apparaissent également dans le microbisme de ces humus et dans celui des combes à neige. Ces faits confirment l'influence prépondérante, essentielle, de la couverture végétale sur la composition de la micropopulation des sols : les seuls véritables association végétales sont composées de la ou des plantes dominantes d'une station donnée et du cortège microbien, fongique, algal et même zoologique (R. MOREAU et J. LEDOUX, 1962) qui les accompagne. On pourrait soutenir, dans une certaine mesure, que l'unité d'association végétale est composée de chaque plante et de ce cortège. Dans cette optique l'influence de chaque élément végétal diminuant avec l'éloignement de son point d'implantation (gradient d'éloignement), il y aurait passage progressif d'une association à l'autre. Si le peuplement végétal est homogène, la composition de la micropopulation le sera aussi : c'est le cas ici ; sinon, le microbisme variera de place en place : on s'en aperçoit bien nettement en forêt.

Du point de vue technique, l'application de notre nouvelle méthode donne des résultats encourageants. Elle a permis, en particulier.

— de montrer les tendances nutritionnelles des microbes du sol dominants ;

— de diminuer, jusqu'à un certain point, la confiance que l'on mettait jusqu'ici dans l'extrait de terre : même « standard » il peut avoir une action inhibitrice

sensible. Cela n'est pas pour nous étonner puisque nous avons constaté (R. Moreau, 1959) qu'un extrait de terre pouvait inhiber la propre micropopulation de la terre qui a servi à la fabriquer. Néanmoins, comme A. G. Lochhead et M. Burton (1956) l'ont montré, l'emploi de l'extrait de terre est indispensable pour cultiver certaines espèces microbiennes aux besoins nutritionnels très complexes, mais son emploi devra être fait avec prudence. Une dose optimum doit être recherchée.

Remerciements.

Nous remercions vivement M. le Professeur J. L. Hamel, du Muséum National d'Histoire Naturelle, qui a permis la mise au point de ce travail et M. le Professeur L. Baillaud, de la Faculté des Sciences de Clermont-Ferrand, pour l'aide matérielle qu'il nous a apportée.

Résumé.

L'auteur a cultivé des suspensions-dilutions d'humus bruts alpins dans les milieux de Lochhead originaux ou modifiés. Cette nouvelle technique a montré qu'à chaque type de lande alpine correspond un microbisme particulier. Elle permet de mettre en évidence les besoins nutritionnels principaux des microbes. L'extrait de terre standard peut avoir une légère action dépressive.

Laboratoire de Biologie Végétale appliquée du Muséum
(Station d'Ecologie Alpine de la Jaysinia, à Samoëns, Haute-Savoie).

BIBLIOGRAPHIE

Augier, J., 1959. — Le taux de croissance des Bactéries du sol en fonction de la source énergétique. I. Études et conséquences. *Ann. Inst. Pasteur*, **96**, pp. 217-222.

— et R. Moreau, 1960. — L'activité amylolytique des sols. *Ibid.*, **99**, pp. 131-141.

Gams, W. et R. Moreau, 1961. — Matériaux pour l'étude pédologique et microbiologique de quelques humus alpins, provenant du Chablais, du Faucigny et du Massif du Mont-Blanc. *Travaux du laboratoire de la Jaysinia à Samoëns (Haute-Savoie). Public. du Mus. Nation. d'Hist. Nat.*, 2e volume, pp. 47-55.

Ledoux, J. et R. Moreau, 1961. — Sur la rencontre d'une flore et d'une faune de caractère montagnard, à basse altitude, aux environs de Besançon. *Ann. Scient. Univ. Besançon*, sér. 2, *Méd. et Pharm.*, **5**, pp. 9-13.

Lochhead, A. G. et M. O. Burton, 1956. — Importance of soil extract for the enumeration and study of soil bacteria. *6e Congr. Intern. Sci. Sol Paris*, **3**, 26, pp. 157-161.

— et F. E. Chase, 1943. — Qualitative studies of soil microorganisms. V. Nutritional requirements of the predominant bacterial flora. *Soil. Sci.*, **55**, p. 185.

Monod, J., 1942. — *Recherches sur la croissance des cultures bactériennes.* 1 vol., 211 p., Hermann et Cie, Paris.

Moreau, R., 1959. — Sur l'action antiphytotique et antibactérienne de l'humus de sapinière. *Ann. Scient. Univ. Besançon*, sér. 2, *Méd. Pharm.*, **3**, pp. 69-78.

— 1961. — Sur la destruction de quelques acides aminés par la microflore du sol. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **152**, pp. 154-156.

— 1961. — Matériaux pour l'étude pédologique et microbiologique des sols alpins. I. Étude microbiologique de quelques alluvions du Giffre (avec la coll. de W. Gams) *Travaux du Laboratoire de La Jaysinia à Samoëns (Haute-Savoie). Public. du Mus. Nation. d'Hist. Nat.*, 2e vol., pp. 34-36.

— M. Jacob et J. Augier, 1960. — Sur le métabolisme du phénol dans les sols. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **251**, pp. 1179-1181.

— et J. Augier, 1962. — Sur l'utilisation de la vanilline par les microorganismes du sol. *Ibid.*, **254**, pp. 555-557.

Neuwiger, J. et A. Czell, 1959. — Standortsuntersuchungen in subalpinen Aufforstungsgebieten. I. Böden in der Tiroler Zentralalpen. *Forstwiss. Centralbl.*, **78,** pp. 327-372.

Rouatt, A. G. et A. G. Lochhead, 1955. — Qualitative studies of soil microorganisms. XIII. Effect of decomposition of various crop plants on the nutritional groups of soil bacteria. *Soil. Sci.*, **80**, nº 4, p. 147.